

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10832

研究課題名(和文) 骨粗鬆症性椎体骨折に対する自己多血小板血漿を用いた椎体形成術の開発

研究課題名(英文) Development of vertebroplasty using autologous platelet rich plasma for osteoporotic vertebral body fracture

研究代表者

長江 将輝 (Nagae, Masateru)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：60604303

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、卵巣切除ラットの腰椎体欠損における骨生成に対するゼラチン-リン酸三カルシウム(-TCP)スポンジと組み合わせた多血小板血漿(PRP)の効果を調査することであった。椎体前面中心に骨欠損を作成した後、以下の材料を充填した：(1)充填なし(コントロールグループ)、(2)ゼラチン-TCPスポンジとPRP、(3) -TCPスポンジとPBS。PRPグループでは、画像と組織学的検査の両方で、目に見える骨形成が最初に誘発され、PBSグループと比較して骨組織の有意な成長が観察された。生体力学的試験は、PRPグループで剛性の増加を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これらの結果は、PRP含浸ゼラチン-TCPスポンジが、骨粗鬆症状態の腰椎骨欠損における骨再生を促進するのに有効であることを示している。ゼラチン-TCPスポンジと組み合わせたPRPは、骨粗鬆症の脊椎骨折に対する椎体形成術への新しいアプローチを開発するために有用である可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to investigate the effect of platelet-rich plasma (PRP) combined with gelatin-TCP sponge on bone generation in a lumbar vertebral body defect of ovariectomized rat. After creating critical-size defects in the center of the anterior vertebral body, the defects were filled with the following materials: (1) no material (control group), (2) gelatin-TCP sponge with PRP, and (3) gelatin-TCP sponge with phosphate-buffered saline. In the PRP sponge group, both imaging and histological examination showed that visible osteogenesis was first induced and additional growth of bone tissue was observed in the transplanted sponge, compared with the PBS sponge group. Biomechanical test showed increased stiffness of the affected vertebral bodies in the PRP sponge group. These results indicate that PRP-impregnated gelatin-TCP sponge is effective for facilitating bone regeneration in lumbar vertebral bone defect under osteoporotic condition.

研究分野：整形外科

キーワード：多血小板血漿 骨粗鬆症 -TCP

様式 C - 19, F - 19 - 1, Z - 19, CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

はじめに、骨粗鬆症性椎体骨折 (osteoporotic vertebral fracture: OVF) は、高齢者において頻度の高い骨折で骨脆弱性を背景とし、軽微な外傷で生じる。約 80% は保存療法で骨癒合が得られるが、保存療法に抵抗性の場合もあり、骨癒合が遷延すると椎体に骨欠損を生じることがある。骨折部の不安定性に伴う強い疼痛や神経麻痺により、日常生活動作が著しく障害されることが報告されている。骨粗鬆症性椎体骨折の手術療法の一つに椎体形成術があり、骨欠損部に人工材料を充填する術式である。簡便で骨折部の安定化とともに除痛効果が得られる有効な術式だが、人工材料の生体親和性、脱転、強度などの問題点があり、補填材料の工夫が必要である。一方、多血小板血漿 (platelet-rich plasma: PRP) は 自己の末梢血を遠心分離して精製することができ、成長因子を高濃度含有している。ゼラチン -tricalcium phosphate (-TCP) スポンジは孔構造を有する担体で生体内分解性があり、成長因子を徐放することが可能である。この二つの材料を組み合わせた PRP 含浸ゼラチン -TCP スポンジを用いた骨再生効果が報告されており、骨粗鬆症の椎体骨欠損に対して応用することができないかと考えた。

2. 研究の目的

われわれは、過去に卵巣切除ラットの椎体前部に骨欠損を作成し、その治癒過程を評価した。その結果、骨粗鬆症条件下での椎体欠損の治癒過程において、骨量形成が抑制され、修復された骨質が悪いことが証明された。

以上の背景から本研究の目的を骨粗鬆症を誘導したラットの椎体骨欠損に対する PRP 含浸ゼラチン -TCP スポンジの骨再生効果を評価することとした。

3. 研究の方法

PRP は末梢血を 2 回遠心分離して精製し、37 °C で 12 時間かけてゼラチン -TCP スポンジに含浸させた。動物としては、12 週齢の Sprague Dawley ラットを用い、両側の卵巣を摘出して骨粗鬆症を誘導した。予備実験にもとづいて、卵巣摘出後 8 週に腰椎の椎体前面にドリルを用いて完全には修復されない骨欠損を作製した。骨欠損部に PRP を含浸させた -TCP スポンジを移植する PRP 群、リン酸緩衝生理食塩水 (phosphate-buffered saline: PBS) を含浸させたゼラチン -TCP スポンジを移植する PBS 群および何も移植しない無処置群に分類した。移植直後と移植後 4, 8, 12 週に椎体を摘出し、micro computed tomography (μ CT) を用いて骨欠損部 (椎体と移植材料) に新生した骨の体積を測定した。組織学的評価として、Hematoxylin Eosin (HE) 染色と Tartrate-Resistant Acid Phosphate/ Alkaline Phosphatase (TRAP/ALP) 染色を行い、骨代謝に関与する細胞の分布や骨再生の過程を評価した。また、生体力学的評価として、椎体の骨強度を解析するために移植後 12 週の時点で圧縮試験を施行し、椎体の最大破断強度と剛性を測定した。

4. 研究成果

μ CT 画像による評価では、3 群ともに早期から椎体骨欠損部の辺縁から骨形成を認めた。定量的評価として骨体積を測定したところ、椎体の骨体積は各週数において 3 群間で有意差を認めなかった。続いて移植材料に生じた新生骨を評価した。PRP 群の骨欠損部において経時的に著明な骨新生を認めたが、PBS 群では骨欠損部の骨新生はわずかであった。移植材料に生じた新生骨の体積を測定したところ、移植材料に生じた新生骨の体積は PRP 群において PBS 群と比

較して8,12週で有意に高値であった。組織学的評価では,PRP群、PBS群いずれも4週でスポンジが椎体に接着していた。その後、8週、12週でPRP群では椎体と連続した新生骨の形成、増生を認めた。PBS群では新生骨を認めたが、わずかであった。強拡大像で確認すると、PRP群では4週でスポンジの孔構造内に線維性組織を認め、8,12週で増生した線維性組織が骨組織に置換されていた。PBS群では4週で孔構造内に線維性組織を認めたが、その後の増生はなく、PRP群と比較して8,12週で形成された組織は疎な骨組織であった。TRAP/ALP染色では、PRP群で4週からTRAP陽性の破骨細胞が出現した。PBS群では破骨細胞を認めたが少数であった。無処置群では、骨欠損辺縁部から骨形成を認めたが骨欠損が完全に修復されることはなかった。生体力学的評価では3群間で最大破断強度に有意差を認めなかったが、PRP群の剛性がPBS群、無処置群と比較して有意に高値であった。

骨粗鬆症においては間葉系細胞の分化能低下や骨芽細胞の減少、骨代謝回転異常が生じている。長管骨を用いた骨折モデルや骨欠損モデルで新生骨の体積低下、微細構造異常、骨強度低下が報告されており、骨再生能が低下している。本研究ではPRP含浸ゼラチン-TCPスポンジを骨欠損部に移植することで骨再生能が低下している骨粗鬆症の椎体骨欠損に対して骨体積、骨代謝、強度の面において十分な新生骨が誘導された。

PRP含浸ゼラチン-TCPスポンジは細胞が接着しやすい孔構造を有しており、さらには生体内で経時的に分解され、PRP中の成長因子を徐放する役割を果たすことが報告されている。

骨再生を促すには細胞が接着、増殖するための足場と細胞増殖因子の供給が必要である。ゼラチン-TCPスポンジが良好な足場となり細胞増殖因子が徐放されることにより、スポンジ内で骨形成と骨吸収に關与する細胞の接着と増殖が長期にわたって促進され、骨代謝回転を有する骨形成が誘導され、その結果自己の骨再生能が促進したと考えた。生体力学的にも、骨欠損部に骨が再生することにより十分な剛性を得ることができた。

本材料は自己の末梢血から精製するPRPと臨床応用されているゼラチン-TCPスポンジを用いており、安全性の面でも優れている。本研究で、PRP含浸ゼラチン-TCPスポンジは骨粗鬆症の椎体骨欠損における骨再生を促進することを示した。PRP含浸ゼラチン-TCPスポンジを用いた椎体形成術は、OVFに対する有効で安全性の高い新たな治療法となる可能性がある。

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakata Munehiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Osteoporotic effect on bone repair in lumbar vertebral body defects in a rat model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Orthop Surg (Hong Kong)	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakata Munehiro	4. 巻 24
2. 論文標題 Bone Regeneration of Osteoporotic Vertebral Body Defects Using Platelet-Rich Plasma and Gelatin-Tricalcium Phosphate Sponges.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tissue Eng Part A	6. 最初と最後の頁 11-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishibashi Hidenobu	4. 巻 34
2. 論文標題 Hepatocyte growth factor/c-met promotes proliferation, suppresses apoptosis, and improves matrix metabolism in rabbit nucleus pulposus cells in vitro.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Orthop Surg Res	6. 最初と最後の頁 709-716
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 阪田宗弘
2. 発表標題 骨粗鬆症が椎体骨欠損の修復過程におよぼす影響 ラット椎体骨欠損モデルで用いた検討
3. 学会等名 第47回日本脊椎脊髄病学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阪田宗弘
2. 発表標題 骨粗鬆症が椎体骨欠損の骨修復過程に及ぼす影響
3. 学会等名 第32回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井辻智典
2. 発表標題 髄核細胞における肝細胞増殖因子の効果 HIF-1 についての検討
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長江将輝
2. 発表標題 腰部脊柱管狭窄症に対する正中進入内視鏡下除圧術(ME-MILD) 術後10年経過例の治療成績と画像所見の検討
3. 学会等名 第46回日本脊椎脊髄病学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 阪田宗弘
2. 発表標題 骨粗鬆症が椎体骨欠損の修復過程におよぼす影響 ラット椎体骨欠損モデルで用いた検討
3. 学会等名 第47回日本脊椎脊髄病学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Munehiro Sakata
2. 発表標題 Possitive effect on bone regeneration by platele-rich plasma combined with gelatin beta-tricalcium phosphate sponges: a study using a bone defect model of vertebral body in ovariectomized rats.
3. 学会等名 45th Annual Meeting of the International Society for the Study of the Lumbar Spine
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Munehiro Sakata
2. 発表標題 Bone Regeneration Of Vertebral Body Defects Using Platelet-rich Plasma Combined With Gelatin Beta-tricalcium Phosphate Sponges In A Rat Osteoporosis Model
3. 学会等名 Orthopaedic Research Sciety 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomonori Itsuji
2. 発表標題 Orthopaedic Research Sciety 2019
3. 学会等名 Hepatocyte Growth Factor Promotes Nucleus Pulposus Cell Proliferation With Hif-1 Expression.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomonori Itsuji
2. 発表標題 Hepatocyte growth factor promotes nucleus pulposus cell proliferation with HIF-1 expression.
3. 学会等名 46th Annual Meeting of the International Society for the Study of the Lumbar Spine
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomonori Itsuji
2. 発表標題 Hepatocyte Growth Factor Regulates Hif-1 -induced Nucleus Pulposus Cells Proliferation That Is Mediated By The Mapk Pathway
3. 学会等名 Orthopaedic Research Society 2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高取 良太 (TAKATORI RYOTA) (10351355)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師 (24303)	
研究分担者	池田 巧 (IKEDA TAKUMI) (40453120)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (24303)	
研究分担者	外村 仁 (TONOMURA HITOSHI) (70604304)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教 (24303)	
研究分担者	三上 靖夫 (MIKAMI YASUO) (80360030)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (24303)	
研究協力者	阪田 宗弘 (SAKATA MUNEHIRO)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	井辻 智典 (ITSUJI TOMONORI)		